

Vías de señalización de la neurotransmisión: enfermedades causadas por disfunción de estas rutas

PILAR GONZÁLEZ GONZÁLEZ

RESUMEN

El cerebro y, especialmente las neuronas, son las células que más señales emiten y que más señales reciben ya que son las organizadoras de todas las funciones de los seres vivos. Las neuronas transmiten sus señales a través de la liberación de moléculas de señalización, los neurotransmisores. Cada neurotransmisor, uniéndose a su receptor específico, ejercerá su función mediante mecanismos diferentes, pero el final será el de abrir canales en la neurona que permitan la entrada o salida de iones como el Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- fundamentalmente. La mayoría de las células utilizan solo señales químicas para llevar a cabo su misión pero las neuronas no solo utilizan este tipo de señales sino que también usan señales iónicas, eléctricas, luminosas y sensoriales. La integración de todas ellas es la responsable de que el cerebro se comunique no solo con nuestro mundo interior (manteniendo el funcionamiento integrado del organismo vivo) sino que también nos pone en contacto con el mundo exterior que nos rodea; además todas estas señalizaciones van a ser las que rijan nuestros pensamientos y nuestra memoria así como el resto de funciones cognitivas del ser vivo.

SUMMARY

The brain, and specially the neurons, are the cells which receive and which emit more signals since they are the responsible for all functions of the living organisms. Neurons transfer their signals through release of signaling molecules, the neurotransmitter. Each neurotransmitter exercised their function by boun-

ding to their specific receptor . This binding involved different mechanisms but the final will be the opening of different ionic channels as Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and Cl^- . Almost all cells only use chemical signals to carry their function but the neurons not only use these signals type but also use ionic, electrical, luminous and sensory signals. The integration of all these signals is the responsible for the brain may be communicated not only with our inside world but also with our inside environment. Beside that all these signalings govern our mind and our memory as well as the remainder of the cognitive functions of the alive organisms.

El hombre debería saber que del cerebro, y no de otro lugar, vienen las alegrías, los placeres, la risa y la broma, y también las tristezas, la aflicción, el abatimiento y los lamentos. Y con el mismo órgano, de una manera especial, adquirimos el juicio y el saber, la vista y el oído y sabemos lo que está bien y lo que está mal, lo que es trampa y lo que es justo, lo que es dulce y lo que es insípido, algunas de estas cosas las percibimos por costumbre, y otras por su utilidad... Y a través del mismo órgano nos volvemos locos y deliramos, y el miedo y los terrores nos asaltan, algunos de noche y otros de día, así como los sueños y los delirios indeseables, las preocupaciones que no tienen razón de ser, la ignorancia de las circunstancias presentes, el desasosiego y la torpeza. Todas estas cosas las sufrimos desde el cerebro. (Hipócrates: Sobre la enfermedad sagrada.)

1. INTRODUCCIÓN

El proceso de señalización celular se define como el conjunto de reacciones bioquímicas llevado a cabo por moléculas químicas de diverso tipo. Cada proceso se realiza en intervalos de tiempo muy pequeños, generalmente de milisegundos aunque, algunos procesos, se realizan en un tiempo de algunos segundos. La neurona puede considerarse como la célula que más señales recibe y sobre todo la que más señales emite. Es la célula de señalización por excelencia ya que las neuronas del sistema nervioso están interconectadas mediante señales específicas emitidas por los neurotransmisores. Las señales emitidas por las neuronas no solo afectan a estas sino que también sirven para comunicarse con las demás células del cuerpo rigiendo todas sus funciones. Las señales neuronales son de muy diversa composición química tanto inorgánica, iones Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- como orgánica, los neurotransmisores y todo el conjunto de moléculas señalizadoras a través de las cuales ejercen su función. Pero además de estas señales químicas, las neuronas también pueden procesar señales físicas como las de calor, frío, luz, eléctricas e incluso electromagnéticas. La gran va-

riedad de señales fisicoquímicas a las que las células pueden responder, hace pensar en una gran variedad de mecanismos de transducción de las mismas. Sin embargo, la evolución ha señalado solamente una pequeña cadena de acontecimientos mediante los cuales pueden transmitirse todas las señales.

En este capítulo se expondrán, de forma general y profunda, algunos procesos mediante los cuales una neurona es capaz de recibir y transmitir una señal. El conocer con cierta profundidad los aspectos mediante los cuales las neuronas son capaces de comunicarse, no solo permite poder entender otros aspectos de la función neuronal, sino que, además, proporciona conocimientos que son esenciales para proponer nuevas preguntas que se plantean hoy en día la neuroquímica, tales como ¿qué es la memoria?, ¿qué son los sueños?, ¿qué es la alegría o la tristeza?. Preguntas estas que se encuentran entre lo abstracto y lo concreto y otras muchas que son simples cuestiones fisiológicas aún sin resolver. El planteamiento de los procesos de señalización de la neurotransmisión se hará de una forma integrada que permitirá conocer cual es el mecanismo de la transmisión nerviosa. No se profundizará en el mecanismo particular de cada neurotransmisor ya que ello supondría un capítulo individualizado para cada uno.

2.. TRADUCCIÓN DE SEÑALES

La transducción de señales es el conjunto de procesos o etapas que ocurren de forma concatenada por el que una célula convierte una determinada señal o estímulo exterior, en otra señal o respuesta específica. En el caso de la neurotransmisión una señal química o física (luz, calor, etc) se transforma en una respuesta eléctrica la cual a su vez da lugar a la eliminación de una señal química (neurotransmisor). Este proceso se repetirá hasta transformarse en una percepción, en una sensación o en un determinado comportamiento. Para poder recibir una señal desde el exterior, por ejemplo la sensación de calor o frío, es necesario que el cerebro reconozca ese estímulo y lo transmita como tal. Para ello ese estímulo tiene que ser recogido a través de receptores específicos situados en neuronas sensoriales las cuales transmitirán esta sensación mediante señales químicas y eléctricas hasta llegar a las neuronas específicas situadas en el SNC (cerebro). Allí son procesadas y enviadas hasta el lugar de recepción en donde se percibirán como una sensación de calor o frío. Este transporte de la señal desde el lugar de recepción al cerebro y desde el cerebro al lugar de recepción es lo que se conoce como «arco reflejo». (Figura 1).

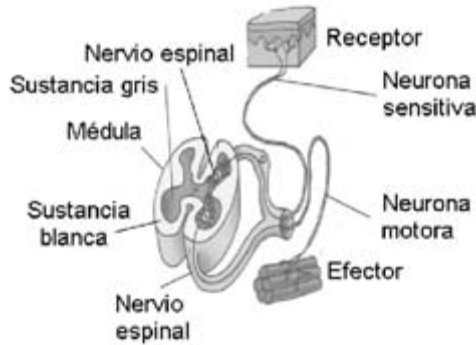


FIGURA 1. Arco reflejo.

El conjunto de neuronas que transportan la señal desde el lugar de recepción al cerebro reciben el nombre de neuronas «aférentes» (sensoriales) y las que transmiten la señal desde el cerebro hasta el lugar de recepción se denominan «eferentes» (motoras). Todas estas señales se transmiten mediante moléculas químicas. Pero antes de entender todo el proceso de la neurotransmisión hay que conocer la estructura de las células que transmiten el impulso nervioso, es decir de las neuronas. Su estructura es la que las hace idóneas para transmitir señales, no solo entre ellas mismas, sino entre unas y otras neuronas e incluso entre neuronas y otras células.

3. LAS NEURONAS

Las neuronas fueron descubiertas por Ramon y Cajal en el año 1889. La neurona se puede definir como la unidad anatómica funcional y trófica del sistema nervioso. El número de neuronas en el cerebro humano es del orden de 10^{10} (1). Esta cifra es muy curiosa ya que viene a ser del orden del número de estrellas existentes en nuestra Galaxia, hecho que ha llevado a numerosas especulaciones a novelistas de ciencia ficción.

Las neuronas tienen un cierto número de elementos semejantes a los de otras células animales. Como todas ellas, poseen una membrana, un núcleo, un citoplasma, etc. pero se diferencian del resto de las células en su morfología y en que posee unos cuerpos denominados corpúsculos de Nissl que, se cree, están involucrados en la síntesis de proteínas, ya que cuando la neurona se daña y necesita repararse, estos corpúsculos desaparecen. A este fenómeno se le denomina tigrolisis. En cuanto a su morfología, el cuerpo de la neurona posee un gran número de pro-

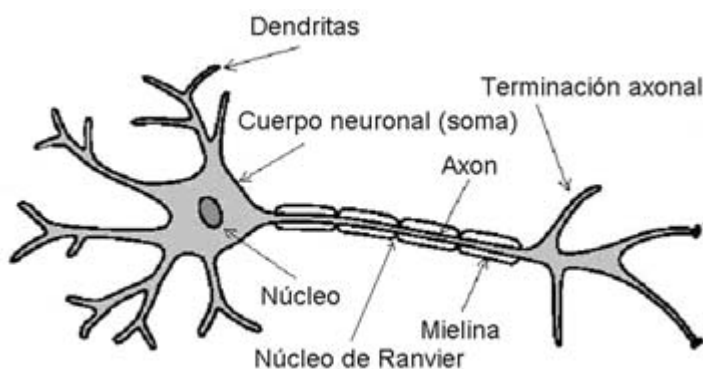


FIGURA 2. Estructura de las neuronas.

longaciones, unas cortas y muy ramificadas denominadas dendritas y una prolongación larga denominada «axon» o «cilindroeje», el cual generalmente está ramificado en su extremo terminal y recibe el nombre de «telodendron» (Figura 2)

El axon es el elemento más característico de la neurona, tanto por su morfología como por su función, ya que es el elemento conductor del impulso nervioso. Es un filamento muy delgado, de contorno liso y grosor bastante uniforme; contiene citoplasma o neuroplasma, membrana externa o axolema, neurofibrillas y mitocondrias pero carece de cuerpos de Nissl. (1)

El neuroplasma es un fluido de naturaleza coloidal, rico en agua que sufre, como luego se verá, modificaciones transitorias durante la transmisión del impulso nervioso. En el neuroplasma se encuentran neurotúbulos, neurofilamentos y mitocondrias.

Los neurotúbulos se disponen paralelamente a lo largo del axon ejerciendo su función en la conducción del impulso nervioso y sobre todo en el transporte de diversos orgánulos (mitocondrias, vesículas sinápticas) desde el cuerpo neuronal hasta la terminación nerviosa y viceversa (2).

El axolema es la membrana envolvente del axon, presenta la misma estructura que la membrana plasmática de la neurona. Sin embargo, lo más interesante es el axolema de la región inicial, región en donde se generan los potenciales de acción.

Los axones de todas las neuronas del sistema nervioso central están rodeados de una vaina de mielina separada de trecho en trecho lo que permite dejar porciones de axon libres (Figura 3).

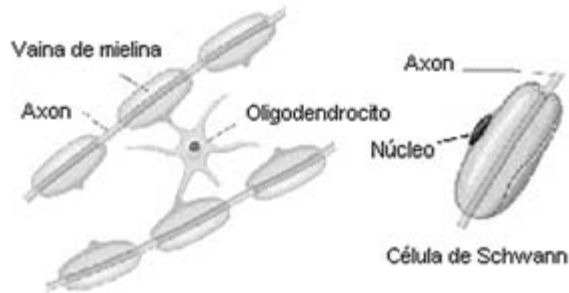


FIGURA 3. *Izquierda: Un oligodendrocito forma la vaina de mielina sobre diferentes axones o varias porciones de un axon. Derecha: Una sola células de Schwann mieliniza una porción de axon.*

Estas porciones no mielinizadas se denominan «núcleos de Ranvier». En las neuronas que pertenecen al sistema nervioso central (SNC), esta mielina está formada por los oligodendrocitos (un tipo de células gliales). En las neuronas del sistema nervioso periférico (SNP) la formación de mielina está a cargo de las células de Schwann (otro tipo de células gliales) (3,4). Un oligodendrocito puede mielinizar distintos axones o diferentes porciones del mismo mientras que una célula de Schwann solo puede mielinizar una sola porción de axon.

En los nódulos de Ranvier se encuentra localizados canales de Na^+ dependientes de voltaje, hecho que contribuye a una rápida conducción nerviosa a lo largo de la fibra axonal de naturaleza saltatoria (5).

Otro tipo de moléculas que se han encontrado a lo largo del axon, concurrentemente sobre los microtúbulos, son estructuras proteicas de entre 10-15 nm conocidas como kinesinas y dineínas. (Figura 4).

El transporte lo hacen desde el soma celular a la terminación axonal (transporte anterógrado). Forman una familia compuesta por unas 140 proteínas, estando involucradas en el transporte de orgánulos membranosos, mRNA, filamentos intermedios y moléculas de señalización. La kinesina es una proteína dimérica que transporta distintos materiales a lo largo de los microtúbulos. La velocidad de este transporte es de 3 nm por cada molécula de ATP desdoblada (6). Varias kinesinas no convencionales mueven los materiales en sentido inverso, desde las terminaciones nerviosas al soma neuronal (transporte retrógrado).

Las dineínas mueven las partículas en sentido retrógrado (7) y forman, al igual que las kinesinas, una gran familia de proteínas involucradas en el fun-

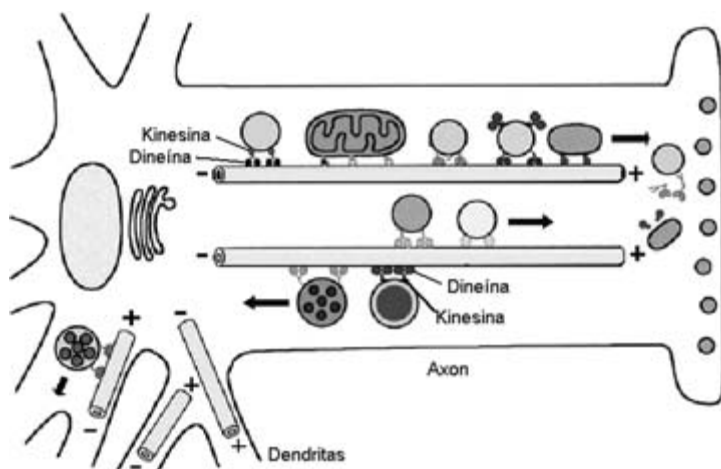


FIGURA 4. Transporte axonal. Proteínas participantes en el mismo.

cionamiento de los neurotúbulos y en el transporte axonal de diversas partículas y orgánulos. Ambas proteínas son dependientes de ATP y su transporte es direccional.

El transporte axonal puede clasificarse respecto a dos criterios: (a) velocidad y (b) dirección.

Existen dos tipos de transporte relacionados con la velocidad axonal, el rápido y el lento. El transporte rápido lleva una velocidad de 200-400 nm/día, mientras que el lento es de 0.2-0.5 nm/día.

Respecto a la dirección el transporte puede ser de dos tipos (a) desde el soma neuronal a la terminación nerviosa (anterógrado) y (b) de la terminación nerviosa al soma neural (retrógrado). Las partículas transportadas son diferentes para los distintos tipos de transporte. El transporte anterógrado rápido transporta vesículas sinápticas, enzimas, neurotransmisores y mitocondrias, el lento transporta proteínas de neurofilamentos, tubulina, actina, clatrina, calmodulina, espectrina y enzimas citoplasmáticas. En el transporte retrógrado, que es de tipo rápido (100-200 nm/día) se transportan vesículas vacías, proteínas recicladas y virus neurotróficos.

La inhibición del transporte axonal mediante toxinas conduce rápidamente a una disfunción de la región distal del axón dando lugar a neuropatías. (8,9). Por ejemplo, una mutación de la kinesina KIF5A da lugar a una paraplejia espástica hereditaria. Se cree que disfunciones del transporte axonal pue-

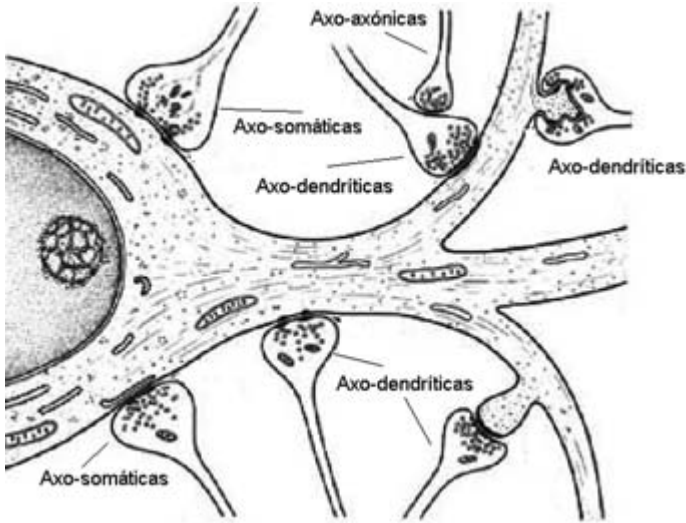


FIGURA 5. *Establecimiento de conexiones entre neuronas.*

de original varias enfermedades neurológicas (10). Así, parece ser que, la esclerosis amiotrófica lateral, una enfermedad neurológica incurable, parece que cursa con una disfunción de ambos transportes, el rápido y el lento. En el análisis de un modelo animal con este tipo de enfermedad se observó que el transporte lento de los neurofilamentos y el transporte rápido de las mitocondrias era mucho mas lento en animales con esclerosis amiotrófica que en animales normales (11-13).

Las neuronas están conectadas unas con otras formando una estructura, sinapsis, que las hace idóneas para comunicarse y regir todas las funciones vitales y cognitivas (Figura 5). Existen varios tipos de sinapsis dependiendo del tipo de conexión entre neuronas. Estas pueden ser (a) sinapsis axo-axónicas, si el axón de la neurona presináptica conecta con el axón de una neurona postsináptica, (b) axo-somáticas, cuando el axón de la neurona presináptica interactúa con el soma de la neurona postsináptica y (c) axo-dendríticas, si el axón de la neurona presináptica se relaciona con la las dendritas de la neurona post-sináptica.

Estas comunicaciones hacen posible la transmisión nerviosa permitiendo, además, una amplia posibilidad de señalizaciones entre neuronas. Si esta transmisión falla, se producen trastornos no solo fisiológicos, como falta de movimiento y coordinación, sino también psíquicos, como demencia, esquizofrenia, depresión, etc.

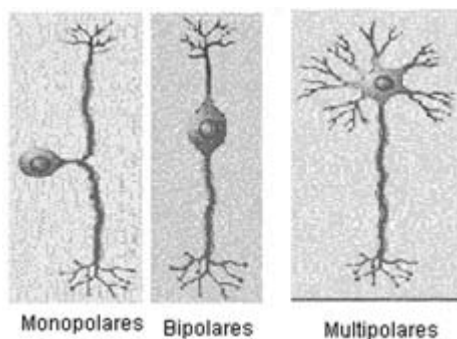


FIGURA 6. Tipos de neuronas. Monopolares o unipolares: el cuerpo celular está en el centro de la longitud del axon. Bipolares: el cuerpo celular posee dos ramificaciones, el axon y una sola dendrita con alguna ramificación. Multipolares: neuronas con un axon ramificado en el extremo terminal y varias dendritas ramificadas que se encuentran en el cuerpo neuronal.

Cada neurona se comunica, al menos, con otras mil neuronas y puede recibir, simultáneamente, hasta diez veces más conexiones de otras. Se estima que en el cerebro humano adulto hay por lo menos 10^{14} conexiones sinápticas (aproximadamente, entre 100 y 500 billones). En niños alcanza los 1000 billones. Este número disminuye con el paso de los años, estabilizándose en la edad adulta. (Figura 5).

Es conocido que las neuronas adultas o maduras no se dividen y que en humanos hay una pérdida diaria de neuronas de alrededor de 20.000. Este solo hecho hace que la neurona sea única.

Las neuronas pueden clasificarse atendiendo a dos criterios: (a) morfológico y (b) funcional. Morfológicamente se clasifican en monopolares, bipolares y multipolares según el número de ramificaciones que posean (Figura 6).

Funcionalmente se pueden dividir en excitatorias, inhibitorias o moduladoras dependiendo del tipo de neurotransmisor que contengan. También pueden clasificarse en sensoriales y motoras dependiendo de que reciban la señal nerviosa (sensoriales) o que la transmitan (motoras) (3).

4. LAS CÉLULAS GLIALES

Además de las neuronas, en el sistema nervioso se encuentran también las células gliales que ejercen funciones muy importantes, además de intervenir en la función nerviosa eliminando el neurotransmisor de las crestas sinápticas. Estas células fueron descubiertas en el año 1846 por Rudolph Virchow. Al igual

que las neuronas poseen dos o tres características que las hace diferentes al resto de las células del organismo (14). El número de células gliales es aproximadamente el doble del número de neuronas.

Existen varios tipos de células gliales y cada una tienen una función especial: (a) las verdaderas células gliales o macroglia tal como los astrocitos y los oligodendrocitos, que proceden del ectodermo, al igual que las neuronas, y las células madre entre las cuales están los espongioblastos, (b) la microglia, que procede del mesodermo y (c) las células ependimales que también proceden del ectodermo.

Las células de microglia invaden el SNC durante su vascularización y forman la piamadre, una de las membranas en las que está envuelto el cerebro. También envuelven las paredes de los vasos sanguíneos y forman la membrana coroidea. Las células gliales difieren de las neuronas en que ellas no forman contactos sinápticos y retienen la capacidad de dividirse a lo largo de la vida, particularmente cuando hay algún daño cerebral.

Entre las funciones de las células gliales están:

- 1) Sirven de guía en el establecimiento de las sinapsis durante la embriogénesis (15, 16).
- 2) Sirven de soporte a las neuronas (los astrocitos y los oligodendrocitos) (17),
- 3) Producen la vaina de mielina (oligodendrocitos y células de Swann) (18),
- 4) Captación rápida y por lo tanto inactivación de la acción de los neurotransmisores (19),
- 5) Formación de tejidos de cicatrización después de un trauma (astrocitos)(20),
- 6) Eliminación de restos celulares procedentes de muerte celular (microglía) (21,22),
- 7) Formación de un sistema de fibras entre la sangre y las neuronas sirviendo de filtro de las sustancias procedentes del torrente sanguíneo, ejerciendo así una función de protección neuronal (astrocitos) (21),
- 8) Control de la composición de iones extracelulares, fundamentalmente K^+ y Ca^{2+} (14).
- 9) Son suministradoras de agentes tróficos, necesarios para la supervivencia de las neuronas
- 10) Juegan un papel destacado en el almacenamiento de la información y la memoria.

5. TRANSMISIÓN NERVIOSA

El impulso nervioso se puede definir como la unidad básica de un conjunto de procesos necesarios para que una información sea transmitida de un lugar a otro del sistema nervioso de un animal. Desde que se recibe una señal hasta que se transmite y llega al lugar preciso ocurre una serie de acontecimientos que se van a describir a continuación. Para poder entender perfectamente toda la mecánica de la transmisión nerviosa y sus señalizaciones es necesario no solo pensar y reflexionar sobre ciertos principios fisicoquímicos básicos, sino, a la vez, conocer determinadas estructuras denominadas sinapsis, que son los lugares en los que se libera el neurotransmisor, así como sus mecanismos de regulación.

5.1. Principios fisicoquímicos del impulso nervioso

No se puede entender la neurotransmisión sin recordar algunos conceptos fisicoquímicos como la difusión y el concepto de gradiente concentración (22-25).

En todas las soluciones las moléculas disueltas están en continuo movimiento dependiendo éste de la temperatura y de la presión. Si se tiene un recipiente separado en dos partes mediante una membrana semipermeable y en uno de los compartimentos se pone una molécula de sacarosa y en el otro agua se establecerá un flujo de moléculas de sacarosa hacia el compartimento donde se encuentra el agua. Este flujo se producirá hasta que la concentración de sacarosa en ambos compartimentos sea la misma. Como la sacarosa no es una molécula cargada, el proceso que se establece se denomina difusión (Figura 7). La fórmula matemática que interrelaciona este fenómeno con las características de la membrana se expresa como sigue:

$$P = D/d$$

En donde P = permeabilidad de la membrana, D = coeficiente de difusión de la membrana para cada sustancia y d = espesor de la misma.



FIGURA 7. Membrana semipermeable. Consecuencia de la difusión.

Este no sería el caso de las membranas celulares ya que a uno y otro lado de éstas existen moléculas cargadas.

Consideremos ahora un recipiente separado por una membrana semipermeable pero que en uno de los compartimentos hay una solución de ClNa y en el otro agua (Figura 8).

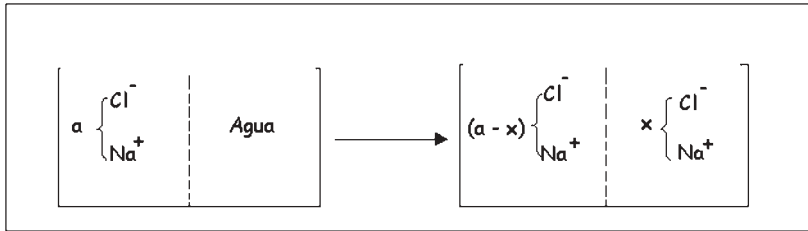


FIGURA 8. *Membrana semipermeable. Consecuencia del equilibrio electrostático.*

En este caso se tiene una molécula cargada (ClNa) en uno de los compartimentos. Por lo tanto, a través de la membrana, no solo funcionaría la difusión sino que las moléculas cargadas jugarían un papel muy importante ejerciendo sobre la membrana una fuerza de atracción o repulsión dependiendo de la carga del ion que la atraviesa (Na^+/Cl^-). Estas fuerzas de atracción o repulsión podrían expresarse matemáticamente:

$$F = Q \times Q'/r^2$$

Siendo F = fuerza de atracción o repulsión a través de la membrana, Q y Q' la carga de las partículas cargadas y r = la distancia entre ambas partículas.

Así, si dos partículas de determinado signo (+ o -) se encuentran acumuladas en una región cercana a la membrana celular, estarían sometidas a una fuerza de atracción o repulsión dependiendo de sus cargas, creándose un flujo de partículas cargadas que estarían bajo la influencia de una fuerza electrostática. Además, existiría entre ambas partículas la tendencia a ir hacia el lado de la membrana en que hubiese menor concentración del ion, luego entre esas partículas habría además una fuerza de difusión. Por otra parte, es evidente que una solución de electrolitos, en la que los iones son capaces de desplazarse libremente, sea eléctricamente neutra en todos los puntos. Supongamos una solución de ClNa y que la permeabilidad de la membrana para el Cl^- y el Na^+ es la misma. En este caso no habrá carga puesto que ambas se neutralizarían; pero, en el caso, en el que la membrana sea más permeable para el anión o para el catión se acumularían partículas de uno u otro signo a lo largo de la membrana y entonces la solución no sería neutra en todos sus puntos.

Este podría ser el caso de las membranas celulares, pero en éstas intervienen, además, otros factores como son la presencia de proteínas, moléculas no permeables.

Por lo tanto, las membranas celulares son poco permeables a moléculas gruesas como las proteínas y en cambio son muy permeables a moléculas pequeñas cargadas como los iones Cl^- y Na^+ o K^+ . En este caso las membranas mantendrían un equilibrio denominado de Gibbs-Donnan.

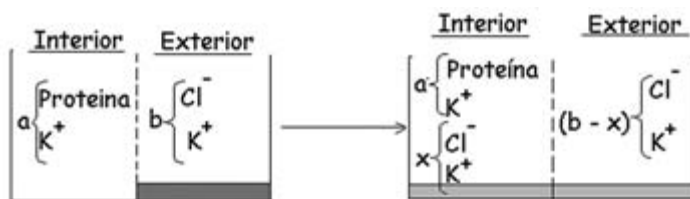


FIGURA 9. Membrana semipermeable. Consecuencia del Equilibrio de Gibbs-Donnan.

Imaginemos un recipiente como el de la Figura 9 separado en dos compartimentos que podría simular el interior (citoplasma) y el exterior (medio ambiente) de una célula. En el compartimento del interior existirían «a» moléculas de proteínato potásico, molécula no permeable, y en el compartimento exterior se colocarían «b» moléculas de ClK, molécula cargada. Como la membrana no es permeable para la proteína esta permanecería en el compartimento interior sin modificarse, en cambio como la membrana es ligeramente permeable para el Cl^- y para el K^+ , al cabo de un tiempo (el necesario para que se estableciese el equilibrio denominado Gibbs-Donnan), «x» moléculas de estos iones pasarían al compartimento interior. En este momento, la composición de estos iones a uno y otro lado de la membrana sería la indicada en la Figura 9, es decir que en el compartimento interior habría (a+ x) iones K^+ y «x» iones Cl^- . En cambio en el compartimento exterior habría (b-x) iones de Cl^- y (b-x) iones de K^+ , cuando se haya establecido el equilibrio electrostático (equilibrio Gibbs-Donnan). Este equilibrio podría formularse matemáticamente como:

$$(a + x) \underset{\text{interior}}{x} = (b - x) \underset{\text{exterior}}{(b - x)}$$

y se definiría como el equilibrio que se alcanza cuando el producto de los iones difusibles son iguales. Si nos fijamos en esta fórmula puede observarse que la distribución de los iones Cl^- y K^+ a uno y otro lado de la membrana no son

iguales ya que la concentración de iones K^+ en el interior ($[K^+]_i$) es mayor que la concentración de iones K^+ en el exterior ($[K^+]_e$) es decir que

$$[K^+]_i > [K^+]_e$$

por otro lado la concentración de iones Cl^- en el interior ($[Cl^-]_i$) es menor que la concentración de iones Cl^- en el exterior ($[Cl^-]_e$):

$$[Cl^-]_i < [Cl^-]_e$$

Entonces, la presencia de una molécula no difusible en uno de los lados de la membrana afecta a la distribución de todos los iones difusibles y por lo tanto se crea un potencial de membrana, que será crucial a la hora de hablar de la neurotransmisión y del transporte del impulso nervioso (32).

Este potencial de membrana se expresa según la ecuación de Nernst como:

$$V = RT/F \times \ln [K^+]_e/[K^+]_i = RT/-F \times \ln [Cl^-]_e/[Cl^-]_i$$

Siendo R = constante de los gases perfectos equivalente a 8,32 J/K x mol, T = temperatura absoluta en grados Kelvin y F = Faraday que se define como la carga eléctrica por equivalente gramo del ion y que equivale a 96.500 C/mol

En el caso de los tejidos biológicos la situación es mucho más complicada ya que el número de iones que intervienen es mayor. Por ello la expresión del potencial de membrana debe hacerse de acuerdo a la ecuación de Goldman la cual se expresa como sigue:

$$V = RT/ZF \times \ln (P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i) / P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e)$$

Donde P_K , P_{Na} y P_{Cl} se refieren a la permeabilidad de la membrana para los iones, K^+ , Na^+ y Cl^- y Z = magnitud de la carga del ion

Si se aplica esta fórmula a las membranas celulares resultan potenciales de membrana entre -60 mV y -100 mV. En la Tabla 1 se indica la composición iónica a uno y otro lado de la membrana del axon del calamar:

Ion	Concentración (moles/L)	
	Exterior	Interior
Na^+	460	50
K^+	20	400
Cl^-	540	50

TABLA 1. Distribución de iones en el axon del calamar.

Uno de los conceptos que debe tenerse en cuenta a la hora de entender las señalizaciones iónicas del impulso nervioso es que en una neurona la cantidad de Na^+ en el espacio extracelular es superior al del espacio intracelular mientras que la concentración de K^+ intracelular es mayor que la concentración de K^+ extracelular.

Se piensa que en casi todas las membranas nerviosas y musculares, el ion cloro está en equilibrio libre a través de la membrana. Una excepción es la membrana del axon del calamar.

Con esta distribución iónica el potencial de membrana que se obtiene por la ecuación de Goldman es lo que se denomina potencial de reposo. Bajo estas condiciones no hay transmisión del impulso nervioso y la distribución de las cargas a uno y otro lado de la membrana celular sería negativa en el interior y positiva en el exterior. El valor del potencial de reposo en algunas neuronas sería de unos -70 mV .

5.2. Concepto del potencial de acción

¿Qué pasaría si por alguna razón la membrana se hiciese permeable a un ion, por ejemplo, al ion Na^+ ? Holdling y Katz, de la Universidad de Cambridge, (26) demostraron que cuando el potencial de membrana se reduce artificialmente dicha membrana experimenta una permeabilidad para el ion Na^+ . En ese caso, iones Na^+ del exterior pasarían al interior de la célula ya que la concentración de Na^+ externa (460 mM) es superior a la del interior (50 mM) y por lo tanto el Na^+ pasaría a favor de gradiente. Estas cargas positivas del Na^+ neutralizarían a las cargas internas negativas con lo que, en un momento dado, se establecería un potencial de 0 mV . En ese momento se dice que la membrana está despolarizada. Bajo estas condiciones, y con el fin de establecer el estado de equilibrio del principio, los iones K^+ que se encuentran a concentraciones altas en el interior celular (400 mM) con respecto a la concentración del exterior (20 mM) tenderían a salir hacia fuera, es decir a favor de gradiente. Pero esta salida estaría impedida por la entrada de las cargas positivas del Na^+ , las cuales repelerían a las cargas positivas del K^+ que sale. Por ello, solamente podrían salir iones K^+ hasta que se equilibrase el potencial del mismo, momento en el que la corriente de K^+ se interrumpirá (feed-back negativo para el K^+).

Cuando la membrana está despolarizada se produce un incremento de la permeabilidad de la membrana para el Na^+ (feed-back positivo para Na^+) ya que se abren canales de Na^+ dependientes de voltaje. Si la despolarización es pequeña, la permeabilidad para el Na^+ no aumentará mucho y una corriente de K^+ siguiendo su gradiente electroquímico, es decir saliendo hacia fuera, restable-

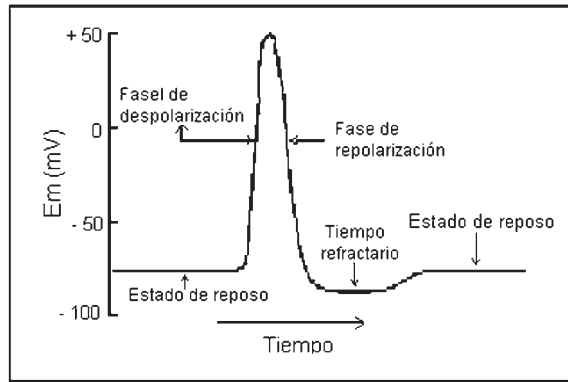


FIGURA 10. *Potencial de acción.*

cería el potencial de reposo de la membrana celular. Pero, si la despolarización es mayor, se puede alcanzar un punto crítico en el que la entrada de Na^+ compense la salida de K^+ , y con una despolarización aún mayor se puede alcanzar el punto crítico en el cual el Na^+ entraría masivamente alcanzándose una despolarización máxima denominada potencial de acción (Figura 10). En este caso, la neurona podría alcanzar un potencial de unos +45 mV.

Cuando esto ocurre, dentro de la célula hay una gran cantidad de Na^+ , que solo puede volver al exterior mediante un transporte activo puesto que no solo tendría que circular en contra de gradiente sino que la membrana no es permeable a este ion. Bajo estas circunstancias, el potasio trata de establecer el equilibrio y para ello una gran cantidad de K^+ sale fuera a favor de gradiente ya que las concentraciones de K^+ en el exterior son menores que las del interior. La salida de potasio (salida de cargas +) es tan grande que el potencial de la célula pasa de -70 mV que tenía en el reposo a -80 mV, potencial inferior al potencial de reposo en el que la célula sería mas electro-negativa; en este momento se establece en la célula lo que se denomina periodo refractario y durante este tiempo la célula será inmune a cualquier estímulo. Toda esta serie de acontecimientos son realizados en un tiempo del orden de milisegundos.

La despolarización inducida por la entrada de Na^+ da lugar a la apertura de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje los cuales facilitan la entrada de calcio al interior de la neurona, condición necesaria, para que se libere el neurotransmisor y se establezca una señal en la siguiente célula sobre la que hace sinapsis.

5.3. Salida del sodio del interior de la neurona

Tras varias despolarizaciones la cantidad de sodio intracelular se eleva y la cantidad de K^+ extracelular es superior a la del estado de reposo, por lo tanto la célula para alcanzar su potencial de reposo necesita volver a recuperar las concentraciones iniciales de iones sodio y potasio a uno y otro lado de la membrana. Esto solo lo puede hacer mediante un transporte activo de estos iones ya que además de ser la célula impermeable al sodio y al potasio la salida o entrada de los mismos la tendría que hacer en contra de gradiente. Esta salida de sodio y entrada de potasio la realiza la célula mediante las denominadas bomba Na^+/K^+ que es una ATPasa Na^+/K^+ dependiente (33).

La enzima esta localizada en la membrana celular con un dominio hacia el interior y el otro hacia el exterior (Figura 11).

El transporte se realiza mediante la salida de 3 moléculas de sodio frente a la entrada de 2 moléculas de K^+ . En una primera conformación la ATPasa tiene su lugar de unión para sodio hacia el interior, esto hace que el Na^+ , que está en exceso en la zona citoplasmática de la neurona, se ligue a la ATPasa lo cual hace que se active la enzima y que se hidrolice una molécula de ATP (paso 1 y 2 en la figura). La energía procedente del desdoblamiento del ATP la utiliza la enzima para fosforilarse.

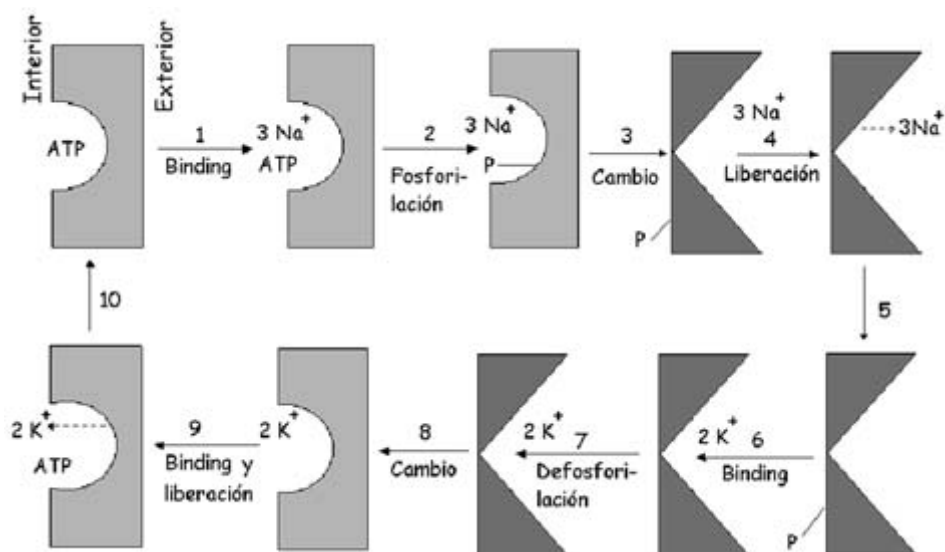


FIGURA 11. ATPasa Na^+/K^+ dependiente implicada en la salida del exceso de Na^+ del interior y de la entrada del exceso de K^+ del exterior de la misma.

Esta fosforilación de la ATPasa da lugar a un cambio de configuración de la enzima haciendo que salga Na^+ (pasos 3 y 4) y que el sitio de unión para el K^+ quede situado hacia fuera favoreciendo la unión de este ion (paso 6). Al unirse una molécula de K^+ la enzima se desfosforila volviendo a cambiar de configuración y pasando a la posición inicial (pasos 7, 8, 9 y 10). Ello hace que el K^+ pase al interior de la célula. Este proceso se realiza hasta que las concentraciones de Na^+ y K^+ en el interior y exterior celular son las del potencial de reposo.

5.4. Propagación del impulso nervioso

El impulso nervioso es un mensaje electroquímico, transmitido por las neuronas, que se efectúa mediante los denominados potenciales de acción. Los impulsos nerviosos son ondas transitorias de inversión del voltaje que existen a nivel de la membrana celular y que se inician en el sitio en que se aplica el estímulo. Cada una de estas ondas corresponde a un potencial de acción, pero, ¿cómo se propaga el potencial de acción?. En el estado de reposo la distribución iónica de los iones Na^+ y K^+ , fundamentalmente, hace que el axon de la neurona posea cargas negativas en el interior y positivas en el exterior (Figura 12)

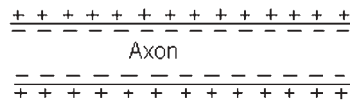


FIGURA 12. Distribución de las cargas en un axon en reposo.

Con la entrada de Na^+ (en este caso producida por la apertura de un canal de Na^+ modulado por su ligando, neurotransmisor, como luego se comentará), la polaridad del lugar por el que ha entrado este Na^+ cambiará, pasando a ser positivo el interior y negativo el exterior en esta zona (Figura 13). Esto dará lugar a una despolarización en este punto y por lo tanto a la activación y apertura de canales de Na^+ dependientes de voltaje en el siguiente lugar y a la entrada de nuevas moléculas de Na^+ a través de los mismos. Se produce, por tanto, la inversión del signo de la carga a uno y otro lado de la membrana en este punto (27-29), transmitiéndose sucesivamente hasta el final del axon.

Una vez que el impulso nervioso ha llegado a la terminación nerviosa, tiene lugar la liberación del/de los neurotransmisores contenidos en esta neurona

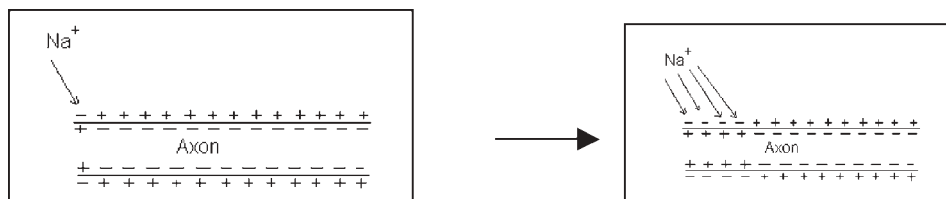


FIGURA 13. Transmisión del impulso nervioso. Notesé como las cargas negativas del interior se van haciendo positivas a medida que entra el Na^+ a través del canal iónico modulado por voltaje.

y encerrados en vesículas sinápticas. En los axones sin mielinizar la transmisión del impulso nervioso sería muy lenta ya que tendría que recorrer todo el axon paso a paso (30). Por el contrario, en los axones mielinizados la conducción será saltatoria entre los núcleos de Ranvier, que es donde se encuentran los canales de Na^+ modulados por voltaje, y por lo tanto esta conducción será más rápida (Figura 14).

En la esclerosis múltiple, enfermedad autoinmune neurodegenerativa, o en otras enfermedades que cursan con destrucción de la mielina como la esclerosis amiotrófica, la adrenoleucodistrofia, etc, el enfermo destruye o es incapaz de formar su propia mielina lo cual conlleva a la desmielinización axonal. Esto hace que el impulso nervioso se transmita con una menor rapidez o incluso que se interrumpa, lo cual da lugar a parálisis con incapacidades muy

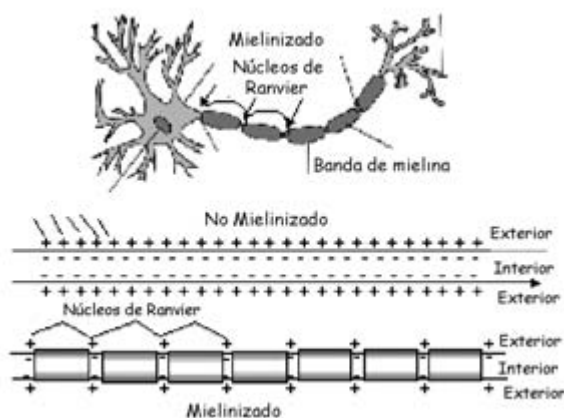


FIGURA 14. Transmisión del impulso nervioso en un axon no mielinizado y mielinizado.

severas. Parece ser que en este tipo de enfermedades neurodegenerativas no solamente se destruye la mielina sino que una vez que es eliminada de los axones, las neuronas desmielinizadas son más susceptibles a la muerte neuronal. El daño causado se vería producido a dos niveles: desmielinización y muerte neuronal.

Hasta aquí se han comentado los principios y señales fisicoquímicas que ocurrirían en una célula excitable o a través de una membrana semipermeable pero ¿cómo tendría lugar en una neurona, cómo sería la secuencia de los hechos que culminan con la liberación de un neurotransmisor?

6. MECANISMO DE LIBERACIÓN DEL NEUROTRANSMISOR

6.1. Sinapsis

Antes de explicar el mecanismo mediante el cual se liberará el neurotransmisor hay que conocer el concepto de sinapsis. Hasta finales del siglo 19 muchos fisiólogos pensaban que entre las neuronas existían conexiones las cuales serían responsables de que se transmitiese el impulso nervioso entre una célula y otra. Sin embargo, estudios de Golgi, Ramón y Cajal y otros investigadores llegaron a la conclusión de que no existían estas conexiones entre neuronas sino que había unos espacios que las separaban unas de otras. Hoy sabemos que estos espacios forman parte de lo que hoy en día se conoce como sinapsis. Davenport (31) nos muestra una excelente revisión de los primeros conocimientos relacionados con la neurotransmisión.

Sinapsis es el conjunto de células y espacios en donde tiene lugar la transmisión del impulso nervioso. Esta estructura está formada por: (a) el terminal de una neurona denominada presináptica o región presináptica, en donde se encuentran los neurotransmisores encerrados en unos compartimentos denominados vesículas sinápticas, (b) las crestas sinápticas de unos 20-30 nm que es el espacio entre la neurona pre y la postsináptica, (c) el cuerpo celular/dendrita o axon de la siguiente neurona, denominada postsináptica y (d) las células gliales encargadas en gran parte de retirar algunos neurotransmisores de la región sináptica eliminando así un efecto sostenido de los mismos (Figura 15).

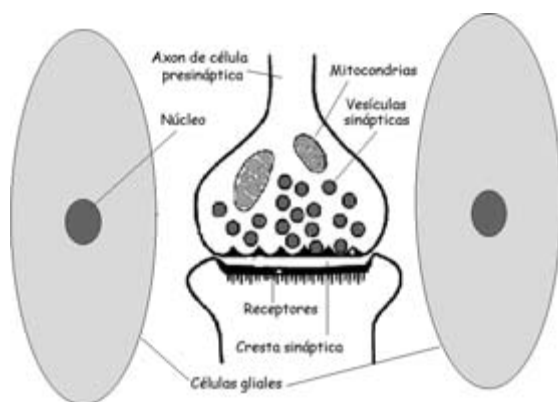


FIGURA 15. Estructura de una sinapsis.

6.2. La señal del sodio en la transmisión del impulso nervioso

Se ha comentado lo que ocurriría en una membrana semipermeable si por alguna razón se hace permeable a un ion, el sodio por ejemplo pero ¿cuál es la razón por la que en una célula excitable (neurona) puede ocurrir esto?. En el caso de la mayoría de las neuronas la primera entrada de Na^+ se originaría, por la unión de un ligando (neurotransmisor excitatorio) a su receptor específico (Figura 16), pero también se podría hacer mediante el estímulo de receptores (sensores), situados en las células sensoriales, y que reconocen estímulos físicos (calor, luz, frío, etc). En ambos tipos de estímulos, químico o físico el resultado sería el de la apertura de una canal para el Na^+ , comenzando la primera señal de la neurotransmisión y el primer mecanismo que conlleva a la misma.

Existen varios tipos de mecanismos de apertura de los canales modulado por ligandos:

- 1) El canal es realmente un receptor para un neurotransmisor y en ese caso la unión del ligando (neurotransmisor) daría lugar a la apertura de un canal, por ejemplo para el sodio, y/o para el Ca^{2+} , dependiendo del tipo de neurotransmisor. Se diría que es un canal de tipo intrínseco. A este grupo pertenecen los receptores de neurotransmisores colinérgicos de acetilcolina y los receptores ionotrópicos del glutamato.
- 2) El canal se abre a través de segundos mensajeros que pueden estar ligados o no a proteínas G. En este tipo de canal el neurotransmisor se uniría a su receptor específico dando lugar a la activación de segundos mensajeros.

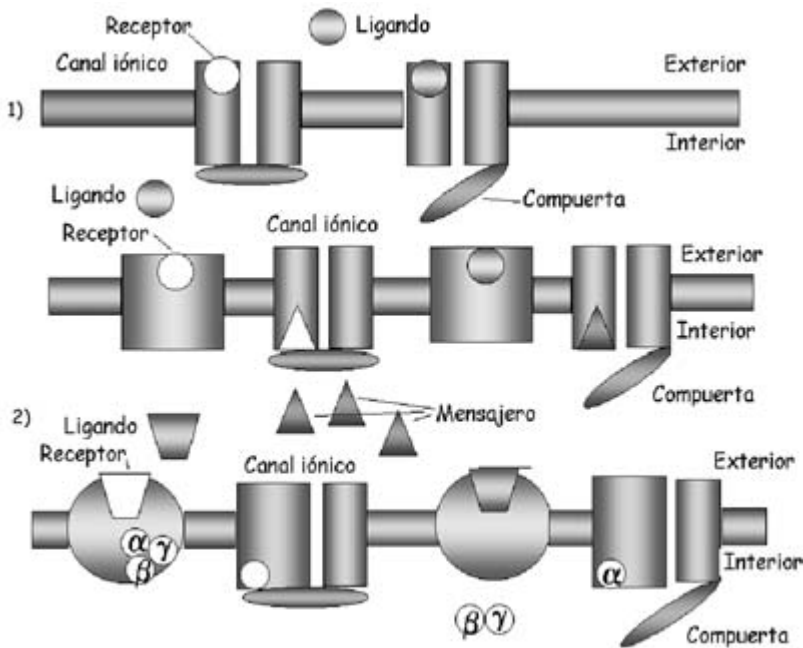


FIGURA 16. Tipos de canales dependientes de ligandos.

ros que se unirían al canal cambiando su configuración de cerrado a abierto. El canal abierto dejaría pasar al ion, (Na^+ y/o Ca^{2+}). A este grupo pertenecerían los receptores de tipo metabotrópico como los del glutamato, catecolaminas y el receptor muscarínico de acetilcolina entre otros.

Esta entrada de sodio, como ya se comentó anteriormente, o bien la entrada de Ca^{2+} (cargas positivas), despolarizaría la neurona y como consecuencia se abrirían canales de Na^+ y de Ca^{2+} dependientes de voltaje siendo los primeros responsables de que se transmita el impulso nervioso a lo largo del axon, y los segundos los encargados de acumular Ca^{2+} en el interior celular, fundamentalmente en la terminación nerviosa. Este calcio actuará finalmente como mensajero en la liberación del neurotransmisor. Para que las neuronas vuelvan a recuperar su estado de reposo es necesario que se recupere el equilibrio de aquellos iones que se encuentran en exceso.

El fundamento general de apertura de un canal dependiente de voltaje se muestra en la Figura 17.

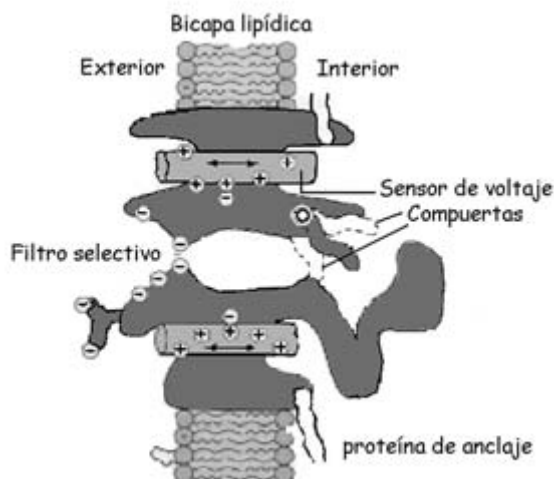


FIGURA 17. Diagrama de un canal dependiente de voltaje.

Los canales iónicos son complejos macromoleculares que forman un poro acuoso en la bicapa lipídica. Se ha comprendido mucho la funcionalidad de un canal mediante las técnicas de patch clamp (26, 34-37) habiéndose descubierto varios tipos de canales iónicos en diferentes células del organismo. Los principales canales iónicos dependientes de voltaje son los de Na^+ , K^+ y Ca^{2+} , los cuales se activan (se abren) mediante despolarización de las membranas. La mayoría de las funciones de estos canales están resumidas en la Figura 17.

El canal consta de:

- 1) un poro muy estrecho en uno de los lados de la membrana de forma que en estado de reposo impide la entrada del ion.
- 2) un filtro selectivo en el cual encaja solamente cada uno de los iones correspondiente al canal, Na^+ , K^+ o Ca^{2+} .
- 3) cargas que son sensores para el voltaje al cual se abre o se cierran las compuertas del canal, controlando así la entrada del ion correspondiente.
- 4) unas compuertas modulables que se abren o cierran cuando el ion está en el interior del canal las cuales controlan el paso del ion al interior celular.

Cada canal posee un voltaje específico al cual se abre o se cierra. Este mecanismo de cierre o apertura requiere cambios conformacionales en la estructu-

ra del canal. Estos cambio pueden ser modulados por diversas drogas y toxinas, siendo esto un medio de control farmacológico del canal, medio que se utiliza para el tratamiento de diversas enfermedades.

Este voltaje, específico para cada canal, es el responsable de que se abra uno u otro canal en un momento determinado, regulando de esta forma la inducción de los potenciales de acción así como la transmisión del impulso nervioso. Esto hace que el voltaje sea una señal extracelular que va a dar lugar a señales intracelulares que serán las responsables de la liberación de los neurotransmisores. Así, las señales de los iones Na^+ y K^+ , mediante un proceso de despolarización de la membrana, darán lugar a la apertura de un canal para el Ca^{2+} el cual entrará en la neurona masivamente desencadenando todo el proceso de la liberación del neurotransmisor.

6.3. La señal del calcio en la neurotransmisión

En primer lugar, al percibir una sensación, el estímulo: bien sea eléctrico, luminoso, químico, de calor o frío, etc es recibido por un receptor específico. Este receptor emite una señal (inducción de segundos mensajeros) que da lugar a la apertura de un canal de Na^+ o bien el mismo receptor es un canal para el Na^+ . Como ya se comentó anteriormente, la entrada de Na^+ induce despolarización de la membrana plasmática de la célula. Esto significa que el potencial de la membrana pasará de -70 mV en el reposo a $+45$ mV en el estado de potencial de acción. Esta señal se va transmitiendo a lo largo del axon, como ya se dijo antes, hasta llegar a la terminación nerviosa. Estas despolarizaciones dan lugar a otras señales (señales eléctricas) que comportan la apertura de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje produciéndose una elevación del mismo en el interior de la célula. Existen varios canales de calcio dependientes de voltaje. Estos pertenecen a los tipos L, N, T, P/Q y R. Cada uno de estos canales se abre a un potencial muy específico, están altamente modulado y son bloqueados por diferentes toxinas.

La entrada de calcio a través de éstos canales media numerosas señales intracelulares, incluyendo la liberación de neurotransmisores, la activación de enzimas dependientes de Ca^{2+} y la regulación de la excitabilidad neuronal (39,40).

La función del calcio en la neurotransmisión fue puesta de manifiesto por Douglas (38) cuando estudiaba la liberación de catecolaminas en células cro-

mafinas. La elevación del Ca^{2+} intracelular hace que las vesículas sinápticas, que contienen el neurotransmisor (excitatorio o inhibitorio), se acerquen a la membrana presináptica, se fusionen con ella y liberen el neurotransmisor que contienen. A este proceso se le denomina exocitosis. Este proceso está perfectamente regulado y en él intervienen una serie de señales intracelulares que lo hacen posible. Las secuencias de señalización del calcio en la neurotransmisión sigue el siguiente orden:

- 1) Desanclaje de las vesículas sinápticas
- 2) Acercamiento de las mismas hacia la terminación nerviosa y
- 3) Fusión y liberación del neurotransmisor

6.3.1. *Desanclaje de las vesículas sinápticas y acercamiento a la membrana presináptica*

Las vesículas sinápticas que contienen el/los neurotransmisores se encuentra anclada por las proteínas del citoesqueleto principalmente filamentos de actina impidiendo que se acerquen al terminal presináptico (Figura 18).

El Ca^{+} , que ha entrado masivamente al interior de la célula a través de los canales de Ca^{+} dependientes de voltaje, se liga a algunas de las proteínas del citoesqueleto, por ejemplo a la actina que en ausencia de Ca^{2+} se encuentra polimerizada formando filamentos los cuales se entrecruzan entre sí secuestrando diversos orgánulos intracelulares entre ellos las vesículas sinápticas, es la primera señal del calcio en el proceso de exocitosis el cual actúa como un mensajero intracelular. Al elevarse el Ca^{2+} intracelular, este se liga a los filamentos de actina, que están inmovilizando a las vesículas sináptica, y los despolimeriza dejándolas libres para moverse y acercarse a la membrana presináptica (Figura 19).

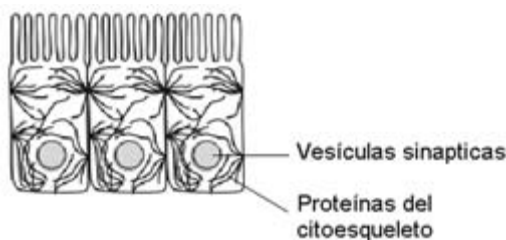


FIGURA 18. *Vesículas sinápticas ancladas por las proteínas del citoesqueleto.*

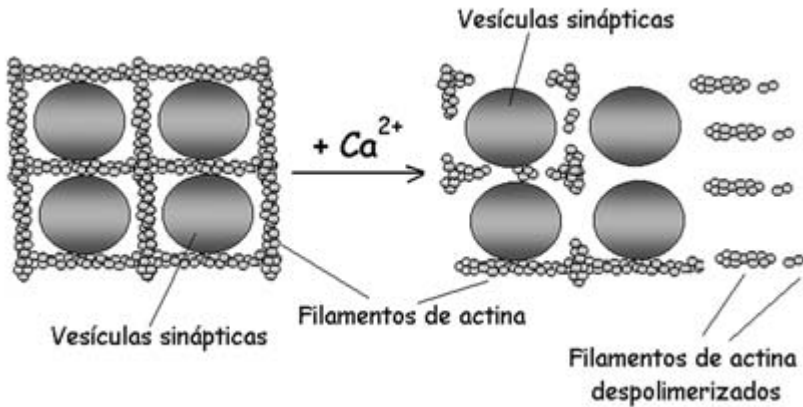


FIGURA 19. *Gelificación del citoesqueleto. Los filamentos de actina se despolimerizan por la acción del Ca^{2+} dejando libres las vesículas sinápticas.*

Este proceso de acercamiento está muy regulado e intervienen varias señales intracelulares. En primer lugar hay que recordar que las vesículas sinápticas poseen varias proteínas en su membrana que van a ser importantes para impulsar la separación de las mismas del citoesqueleto y para inducir su fusión con la membrana presináptica. (Figura 20). Muchas de estas proteínas ligan calcio ejerciendo así su función.

Entre estas proteínas están: sinapsina, sinaptobrevina, también conocida como VAMP, las sinaptofisinas, sinaptotagminas, sinaptogirinas y v-SNARE entre otras. Cada una de ellas va a tener una función concreta en el proceso del acercamiento y liberación del neurotransmisor.

La **sinapsina**: Es una proteína codificada por dos genes distintos, constituyendo alrededor del 9 % de la proteína vesicular. Esta proteína es una de las responsables de la unión de la vesícula sináptica a los filamentos de actina. Es una proteína capaz de regularse mediante fosforilación-defosforilación. Así, cuando el Ca^{2+} se eleva, se activa la calmodulina que es una proteinkinasa encargada de fosforilar a la sinapsina I. La calmodulina es capaz de ligar cuatro méculas de Ca^{2+} /mol de calmodulina. La fosforilación de la sinapsina I hace que la vesícula sináptica se separe de la actina y pueda migrar hacia la membrana presináptica (41).

La **sinaptofisina** parece estar involucrada en la formación de un canal, en la membrana presináptica, a través del cual va a liberarse el neurotransmisor. En las células neuronales esta proteína esta asociada a vesículas sinapticas pequeñas que contienen neurotransmisores clásicos pero casi nunca o nunca se las

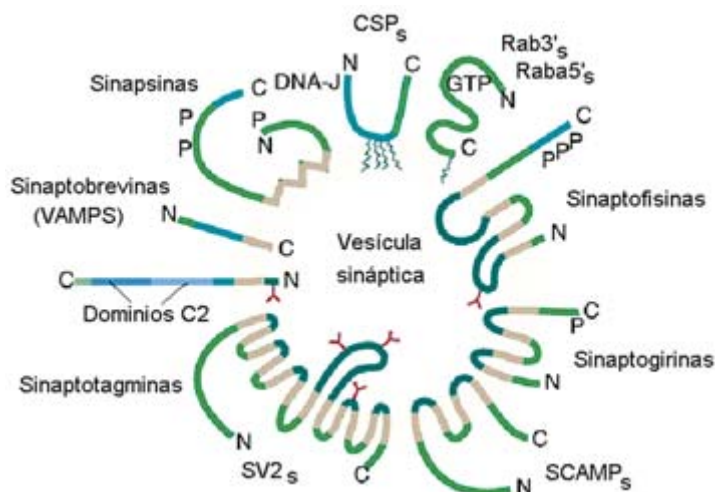


FIGURA 20. Proteínas de las vesículas sinápticas.

ha encontrado asociadas a vesículas sinápticas grandes que contienen neuro péptidos (42).

La **sinaptotagmina** es una proteína que liga Ca^{2+} , mediante dos sitios de unión para el mismo, el C2A y el C2B y ambos actúan de forma independiente e interaccionan con el complejo SNARE. Cada dominio tiene unas propiedades físicas específicas y así el dominio C2A cuando liga calcio sufre un cambio conformacional mientras que el dominio C2B no lo sufre.

La **VAMP-1 o sinaptobrevina**, se ha encontrado en el pez torpeda. Es una proteína de 13 Kda integrada en la zona citoplasmática de la vesícula sináptica (44-46). Es fundamental para el anclaje de las vesículas sinápticas en el terminal pre-sináptico. Se une a proteínas específicas de la membrana plasmática como la syntaxina y SNAP-25. Existen varios tipos, todos ellos altamente conservados desde la levadura hasta los mamíferos. Son reguladas por Ca^{2+} . Forman parte de las proteínas denominadas v-SNARE y se disocian por las toxinas botulínica y tetánica.

En la membrana plasmática se localizan otras proteínas que también forman parte de la maquinaria exocitótica. Entre ellas se encuentran la syntaxina, SNAP-25, t-SNARE, etc.

La **syntaxina** se localiza en la membrana presináptica y liga a la sinaptotagmina, teniendo un papel en el proceso de exocitosis (liberación del neurotransmisor). Tienen un sitio de unión para ω -conotoxina por lo que se la supo-

ne asociada a canales presinápticos de calcio (45), sugiriéndose que está acoplada a la entrada de calcio por estos canales lo que hace que la liberación del neurotransmisor sea más rápida. Tienen función en el anclaje de las vesículas sinápticas al unirse con sinaptotagmina, sinaptobrevina, SNAP-25 y Sec6/8.

La **SNAP-25** es una proteína de 25 Kda encontrada por primera vez en terminaciones nerviosas aunque posteriormente también se la localizó ubicada en tejidos endocrinos (47-49). Se ha implicado a esta proteína como uno de los componentes más específicos de la maquinaria secretora, compuesta por N-etilmaleimida, un factor soluble denominado NSF que se asocia a los SNAPs de todas las células eucarióticas (50). A la SNAP-25 de terminaciones nerviosas se la ha encontrado asociada a otras proteínas de la membrana plasmática como la syntaxina así como, a proteínas de la membrana de vesículas como VAMP/sinaptobrevina y sinaptotagmina que se cree constituyen un sistema SNARE de anclaje de las vesículas sinápticas implicado en la regulación de la exocitosis (51-53).

t-SNARE, es un conjunto de proteínas situadas en la membrana plasmática de las neuronas (53). Son necesarias para el ensamblaje de las vesículas sinápticas con la membrana celular dando lugar a la liberación de estas. Actúan como receptores específicos de las proteínas homólogas de las vesículas sinápticas (sinaptobrevina y sinaptotagmina).

En el citoplasma de las terminaciones nerviosas se encuentran las proteínas **Rab**, también necesarias en el proceso de exocitosis. Son proteínas muy conservadas en la escala evolutiva, desde las levaduras hasta los mamíferos. Las proteínas Rab pertenece al grupo de proteínas que ligan GTP, son proteínas con actividad de GTPasa, que intervienen en el proceso de acercamiento y anclaje de las vesículas sinápticas. (54,55). La localización de estas proteínas oscila entre las membranas y el citosol. Cuando se encuentran unidas a GDP son inactivas y se encuentran en el citosol junto con un inhibidor de la disociación de GDP denominado GDI que impide que Rab pueda liberar GDP. En su estado activo (Rab-GTP) son capaces de unirse a membranas de un orgánulo o de una vesícula de transporte.

6.3.2. *Fusión de las vesículas sinápticas*

La fusión de la vesícula sináptica con la membrana plasmática presináptica es un proceso muy complejo, aún no bien conocido, en el que intervienen varias de las proteínas indicadas anteriormente como la sinaptobrevina, la sinaptotagmina de la membrana vesicular, las proteínas syntaxina, SNAP25, y n-

sec1 de la membrana plasmática, las Rab3 del citosol y factores sensibles a N-etilmaleimida (NSF) con actividad de ATPasa. Este conjunto de proteínas forman parte del complejo denominado SNARE (v-SNARE y t-SNARE), el cual da lugar a la formación de un poro en la membrana plasmática que hace posible la salida, al espacio sináptico, del contenido de la vesícula sináptica, es decir del neurotransmisor. En este proceso tiene un papel importante el Ca^{2+} . Las toxinas botulínica y tetánica se unen a la sinaptobrevina/ VAMPs impidiendo la unión de la vesícula sináptica al terminal sináptico e impidiendo la liberación del neurotransmisor y por lo tanto inhibiendo la neurotransmisión (56, 57).

Esquemáticamente la fusión de la vesícula sináptica con la membrana presináptica y la liberación del neurotransmisor se puede visualizar en la Figura 21

La secuencia de acontecimientos es como sigue:

- 1) La proteína Rab se encuentra soluble en el citoplasma de la terminación nerviosa de forma inactiva. Cuando Rab liga GTP, donado por una proteína liberadora de guanidilnucleótidos (GEF), forma un complejo Rab-GTP capaz de unirse a la vesícula sináptica.
- 2) El complejo Rab-GTP se une a un conjunto de proteínas de la vesícula sináptica que forman el complejo SNARE vesicular (v-SNARE). Esto hace que la vesícula sináptica se transporte hacia la membrana presináptica.
- 3) Una vez cerca de la membrana presináptica, la vesícula sináptica así activada, reconoce a un receptor, denominado efector de Rab, que se encuentra en la membrana presináptica y se liga a él y al complejo de proteínas que forman los SNARE de membrana (t-SNARE). Cuando interaccionan, los dominios helicoidales de ambos SNARES, v-SNARE y t-SNARE, se enrollan formando complejos estables denominados «trans-SNARE». El apareamiento estrecho de los SNARE sitúa las bicapas lipídicas de ambas membranas (vesicular y presináptica) muy cerca de forma que las moléculas de agua de la interfase son expulsadas. Los lípidos de las dos capas confluyen formando un tallo de conexión. Se produce así la unión entre las dos membranas, la vesicular y la de la región presináptica formando una nueva bicapa. Con esta unión, el GTP ligado a Rab se hidroliza dejando libre GDP y Rab. La vesícula queda anclada a la membrana presináptica.
- 4) Después de haber actuado, los SNARE tienen que separarse para volver a actuar nuevamente. Para ello, una proteína señalizadora denominada NSF, con actividad ATPasa, se une a otra proteína denominada adaptadora. Al activarse NSF se hidroliza ATP cuya energía de hidrólisis se uti-

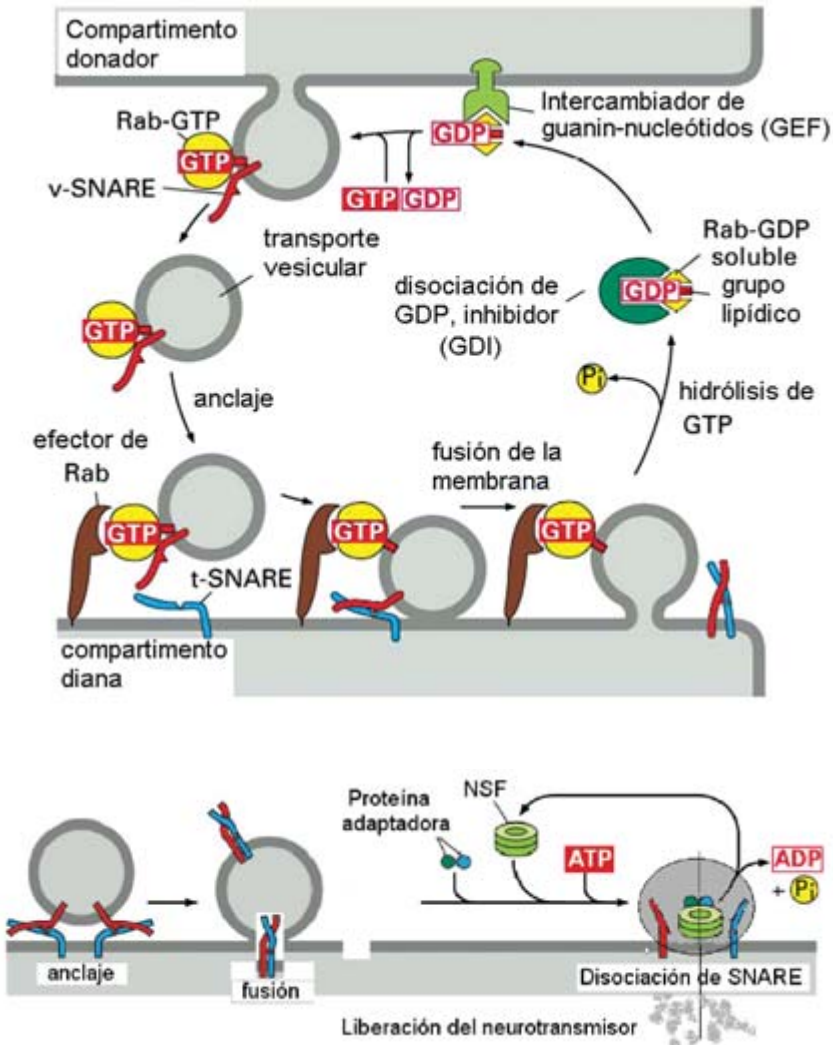


FIGURA 21. *Mecanismo de acercamiento y anclaje de la vesícula sináptica a la membrana presináptica y liberación del neurotransmisor (exocitosis).*

liza para desenrollar las interacciones de enrollamiento helicoidal entre los dominios helicoidales de las SNARE (v-SNARE y t-SNARE) y para facilitar la unión de otras proteínas aún no bien identificadas, aunque podrían ser sinaptofisinas, que al unirse a los SNARE da lugar a la formación de un poro a través del cual se liberará el neurotransmisor.

Aunque en todo este proceso de liberación de la neurotransmisión el calcio juega un papel relevante, sin embargo, parece ser que no solo el calcio está implicado en toda esta mecánica secretoria sino que también variaciones del pH en esta región podría jugar un papel destacado. A favor de esta teoría están los resultados de Kuijpers et al (58) que encontraron que variaciones del pH en células cromafines son cruciales para que tenga lugar la liberación de catecolaminas y trabajos de López et al (59) que indican que la liberación de aminoácidos neurotransmisores (aspartato, glutamato, glicina y GABA) no pueden explicarse solamente a través de la modulación de canales de calcio dependientes de voltaje.

6.3.3. *Liberación del neurotransmisor*

Las vesículas sinápticas son de dos tipos: (a) pequeñas que encierran los neurotransmisores clásicos: excitatorios e inhibitorios que son los implicados en la comunicación entre las propias neuronas y entre neuronas y el resto de las células del organismo, y (b) las vesículas grandes que contienen los neuropéptidos que generalmente actúan como neuromoduladores.

Cuando las vesículas sinápticas llegan a la terminación nerviosa de la célula presináptica, mediante el mecanismo antes indicado, se fusionan con dicha membrana y son liberadas en las crestas sinápticas. Allí se vierte el neurotransmisor contenido en estas vesículas y se difunden hasta alcanzar los receptores específicos localizados en la célula postsináptica (Figura 22). Si el neurotransmisor es del tipo excitatorio, su unión a estos receptores comportará nueva apertura de canales Na^+ , que darán comienzo a un nuevo potencial de acción y a la apertura de canales de Ca^{2+} . Ambos eventos volverán a poner en marcha el mecanismo de liberación del neurotransmisor de la siguiente neurona postsináptica.

En el caso de neurotransmisores inhibitorios, la unión de éstos a su receptor específico comporta una entrada de Cl^- , que inducirá una hiperpolarización (más cargas negativas en el interior) y el potencial de membrana pasará de -70 mV en el estado de reposo, a -90 mV que vienen a ser el potencial para el Cl^- . Este potencial impide que la posible llegada de iones Na^+ (procedentes de la unión a receptores excitatorios), sea capaz de inducir potenciales de acción. La célula se encontrará en una especie de periodo refractario, en donde, como ya indicamos antes, es incapaz de recibir señales excitatorias y por lo tanto es incapaz de transmitir un impulso nervioso.

Una vez cumplida su función que sería la de abrir canales para el Na^+ y Ca^{2+} , en el caso de los neurotransmisores excitatorios, y canales de Cl^- en el caso

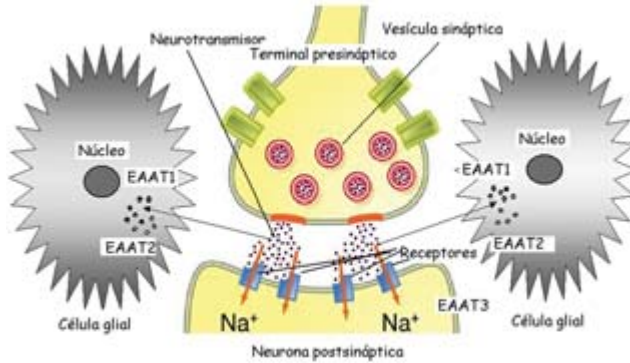


FIGURA 22. Liberación del neurotransmisor, unión a los receptores postsinápticos específicos y eliminación del mismo por las células gliales y neuronas.

de los neurotransmisores inhibitorios, este neurotransmisor tiene que desaparecer de las terminaciones nerviosas con el fin de dejar de ejercer una función de un forma ilimitada. Esta desaparición corre a cargo de dos mecanismos:

- 1) Por actuación de enzimas degradantes del neurotransmisor, como en el caso de la acetilcolina, la cual después de ejercida su acción es eliminada de las crestas sinápticas mediante la enzima acetilcolinesterasa, localizada en las membranas celulares de la región sináptica. Esta enzima degrada la acetilcolina en acetato y colina.
- 2) Mediante transporte del neurotransmisor al interior de las células que conforman la región sináptica, principalmente las células de glia, pero también al interior de las propias neuronas postsinápticas e incluso pre-sinápticas. Este internamiento del neurotransmisor se lleva a cabo mediante transportadores específicos localizados en la membrana celular. Una vez en el interior de las células, los neurotransmisores son metabolizados por enzimas específicas localizados en estas (Figura 22).

6.3.4. Señalización de los neurotransmisores

La señalización entre las neuronas se lleva a cabo mediante la acción de los denominados neurotransmisores. Los neurotransmisores los podemos definir como el conjunto de moléculas químicas, sintetizadas por las neuronas, que son capaces de transmitir señales entre distintas células. Esto tiene un doble protagonismo:

- 1) Permite ponernos en contacto con el mundo que nos rodea discerniendo entre los diferentes estímulos y
- 2) Dirige nuestros sentimientos y nuestros pensamientos, modulando nuestro mundo cognitivo.

Existe un gran número de neurotransmisores de diferente naturaleza. Unos son aminoácidos como el Asp, Glu, Gly y GABA; otros son aminas como la serotonina o las catecolaminas; ésteres como la acetilcolina y purinas, como adenosina, ATP o GTP. También pueden ser neuropéptidos como la sustancia P y las endorfinas, aunque estos últimos actúan más como neuromoduladores que como verdaderos neurotransmisores. Otras clasificaciones de neurotransmisores están relacionadas con las señales que producen y así los agrupan en neurotransmisores excitatorios, cuando son capaces de transmitir una señal de una célula a otra o inhibitorios, si impiden que se produzca esta transmisión.

Los principales neurotransmisores excitatorios en el SNC son la acetilcolina y el glutamato y el principal neurotransmisor inhibitorio es el 4-aminobutirato (GABA), aunque cada vez hay mayor número de evidencias que apuntan también a la glicina como neurotransmisor inhibitorio.

Cada neurotransmisor se une a uno o a varios tipos de receptores aunque cada uno de ellos son específicos para un determinado neurotransmisor. Los receptores para los diferentes neurotransmisores se clasifican en ionotrópicos, si su mecanismo de acción es a través de la apertura de un canal iónico y metabotrópicos si la unión al receptor comporta la formación de segundos mensajeros, como es el caso de las catecolaminas.

Aunque el mecanismo de actuación de cada neurotransmisor requiere un capítulo aparte, sin embargo, vamos a esquematizar aquí su función/nes globalizada/s. Sea cual sea el mecanismo por el que un neurotransmisor es capaz de transmitir la señal, el resultado final va a ser la apertura de un canal iónico (Na^+ , Ca^{2+} y Cl^-). En algunos casos, como ocurre con los receptores ionotrópicos de acetilcolina y glutamato, el mismo receptor puede ser un canal de Na^+ o Ca^{2+} dependiendo del tipo de receptor ionotrópico. En el caso del GABA y glicina, el receptor GABA-A es un canal para el Cl^- . Este receptor del GABA normalmente da lugar a la entrada de Cl^- originando hiperpolarizaciones y por lo tanto una acción inhibitoria, pero en algunos casos la unión del GABA a su receptor comporta salida del Cl^- lo que origina despolarización y por lo tanto, su función no sería inhibitoria sino todo lo contrario (60-62). Parece ser que este mecanismo dual del receptor GABA-A se debe al potencial al cual se encuen-

tre la membrana (60,61) o bien actúa como neurotransmisor excitatorio en neuronas inmaduras (62).

En otros casos el receptor no es el canal para estos iones pero la unión con su ligando comporta la inducción de segundos mensajeros los cuales serán los responsables de la apertura del canal. Este sería el caso de los receptores metabotrópicos. En cualquier caso, como se ha dicho anteriormente, el resultado final de la actuación de un neurotransmisor será la apertura de un canal iónico.

6.3.5. *Eliminación del calcio intracelular*

A la célula ha entrado Ca^{2+} a través de los canales abiertos por el propio neurotransmisor y/o bien a través de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje abiertos por despolarización de la neurona. El Ca^{2+} ha sido el responsable del proceso de exocitosis por el que las vesículas sinápticas se acercan al terminal nervioso y liberan el neurotransmisor, pero ahora, el Ca^{2+} está en exceso dentro de la neurona y este exceso es tóxico para las células. Una vez ejercida su función (liberación del neurotransmisor), el Ca^{2+} tiene que eliminarse y esta eliminación se efectúa también mediante un proceso de señales.

En *neuronas no depolarizadas* (en estado de reposo), la concentración de calcio intracelular libre ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) es 100 nM, mientras que la concentración de calcio en el espacio extracelular es 2 mM. Este gradiente de calcio a uno y otro lado de la membrana celular se mantiene a través de dos acontecimientos distintos:

- 1) Mediante diversas proteínas translocadoras ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter) a nivel de las membranas celulares.
- 2) Por transporte activo mediante la acción de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ATPasas. (57).

En condiciones de reposo la mayoría del Ca^{2+} intracelular está almacenado en el retículo endoplásmático. Debido a que la elevación sostenida de calcio citoplasmático es catastrófico para la neurona, ya que es un desencadenante de muerte celular, su regulación, aunque compleja debe ser muy precisa.

Se sabe que, tras el impulso nervioso, se induce una gran elevación del calcio intracelular, hasta 100 o más veces por encima de su concentración basal. Esta elevación de calcio es necesaria para hacer posible la liberación del neurotransmisor; pero una vez ejercida su acción debe ser eliminado rápidamente del citosol para llevarlo a las condiciones de reposo. En este proceso de homeostasis del Ca^{2+} intervienen los siguientes mecanismos (Figura 23):

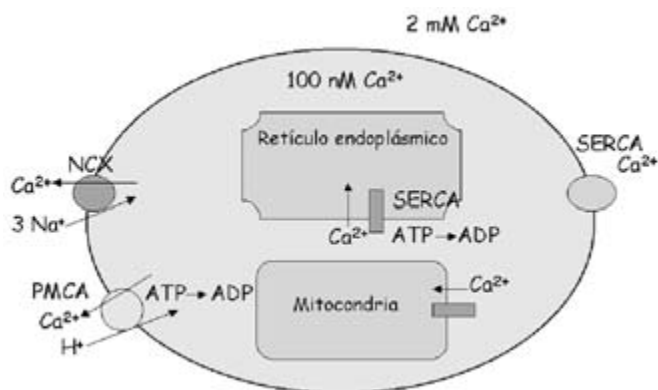


FIGURA 23. Eliminación del calcio intracelular.

- 1) Una ATPasa plasmática ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$) del tipo P, denominada PMCA que presenta una estequiometría de transportar de un átomo de Ca^{2+} por cada ATP hidrolizado. Posee alta afinidad para el Ca^{2+} frente a una relativa poca eficacia para el transporte del mismo (63). Se piensa que esta enzima es más eficaz en el mantenimiento de las concentraciones bajas de Ca^{2+} cuando la neurona se encuentra en el estado de reposo. Esta enzima no solo se activa por calcio sino por el complejo Ca^{2+} /calmodulina ya que la calmodulina incrementa en unas 20-30 veces la afinidad de la enzima por el Ca^{2+} . En el cerebro se encuentran cinco isoformas de la enzima, cada una con diferente localización (64).
- 2) Una ATPasa (SERCA), localizada en las membranas plasmática y en la del retículo endoplásmico. La estequiometría de estas dos bombas es distinta. La Ca^{2+} -ATPasa de la membrana plasmática transporta un átomo de calcio por cada molécula de ATP hidrolizado mientras que la enzima del retículo transporta 2 átomos de Ca^{2+} por cada molécula de ATP hidrolizado (65,66). Esta bomba se puso de manifiesto primeramente en el retículo sarcoplásmico pero luego se la encontró también en cerebro. Existen tres isoformas de SERCA codificadas por diferentes genes (a) SERCA-1 que se expresa en el músculo esquelético, (b) SERCA-2, con dos subtipos SERCA-2a y SERCA-2b; la SERCA 2a se ha localizado en el corazón y la SERCA 2b en el cerebro y (c) la SERCA 3 que se expresa en linfocitos, células endoteliales y plaquetas.
- 3) Translocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ o NCX: Se encuentra en la membrana citoplasmática y en la del retículo endoplásmico (66). Este translocador reduce

el calcio intracelular hasta una concentración menor de 1 mM. El transporte de Ca^{2+} lo hace a través del gradiente electroquímico proporcionado por el transporte del Na^+ . Transporta un $\text{Ca}^{2+}/3\text{Na}^+$. Existen tres isoformas de este transportador (NCX1, NCX2 y NCX3). Las tres isoformas se expresan en cerebro, la NCX1 y NCX3 en neuronas y la NCX2 en células gliales.

7. ENFERMEDADES CAUSADAS POR DISFUNCIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN Y ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

Si se tienen en cuenta todo lo expuesto nos daremos cuenta que el fallo de la transmisión nerviosa va a afectar a todos los órganos del ser vivo ya que, mediante la transmisión nerviosa, el «cerebro» dirigirá el funcionamiento de todo el organismo no solo a nivel fisiológico sino también a nivel psíquico. Esto significa que el fallo en la neurotransmisión será responsable no solo de enfermedades de tipo físico como la parálisis y la descoordinación de movimientos sino que también va a ser responsable de trastornos de nuestra vida cognitiva. Así disfunciones de la transmisión nerviosa nos pueden llevar a la demencia y/o a la locura.

El fallo de la neurotransmisión no solo se debe a las alteraciones de los mecanismos de liberación y/o función de los neurotransmisores sino que también pueden deberse a otras alteraciones tales como destrucción de mielina, como ya se comentó, o a muerte neuronal producida por diversas causas.

Los síntomas más corrientes debidos a fallos en la neurotransmisión van a ser:

- (a) físicos como las parálisis y las pérdidas del movimiento que conducirán al enfermo a incapacidades, a veces muy profundas, que pueden llevarle a una total dependencia
- (b) psíquicos con pérdidas de la memoria, depresiones y locura.

Las estrategias terapéuticas son muy variadas ya que dependerán del neurotransmisor cuyo mecanismo esté alterado. Por ello no vamos a exponerlas aquí, pero de una forma general y como ejemplo de la posibilidad de utilizar una estrategia en este sentido se comentará que bloqueantes de canales de Ca^{2+} suelen ser muy utilizados, así como drogas sedantes que actúan modulando al receptor del GABA, como son las benzodiazepinas.

8. CONCLUSIONES

Para que tengan lugar la señalización entre células mediada por neurotransmisores son necesarios varios factores:

- 1) La síntesis del neurotransmisor y su almacenamiento en vesículas sinápticas
- 2) La liberación del mismo,
- 3) La llegada del neurotransmisor a la célula diana y la unión a receptores específicos dando como resultado final la entrada de iones a través de canales iónicos modulados por ligando.
- 4) El transporte de la señal mediante la creación de potenciales de acción a lo largo del axon. Creación de potenciales de acción originados por la entrada de Na^+ a través de canales de Na^+ dependientes de voltaje que provocan una nueva eliminación de un neurotransmisor, y así sucesivamente.
- 5) La eliminación de los neurotransmisores de las crestas sinápticas se lleva a cabo: (a) mediante transportadores situados en las membranas de células gliales o neuronas que conforman la región sináptica y (b) por la acción de enzimas que hidrolizan el neurotransmisor, como es el caso de la acetilcolina.

9. REFERENCIAS

1. Peters A., Palay, S.L. y Webster H, de F. (1991). *The Fine Structure of the Nervous System: The Cells and Their Processes*. New York: Oxford University Press
2. Rustom A., Saffrich R., Markovic I., Walther O. y Gerdes H.H. (2004) Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science*. **303**: 1007-1010.
3. Kandel, E.R., Schwarz J.H. y Jessell T.M (eds) (1991) *Principles of neural Science*. Amsterdam: Elsevier.
4. Raine R.C. (1982) Differences in the nodes of Ranvier of large and small diameter fibres in the PNS. *J. Neurocytol.* **11**: 935-047.
5. Ristchie, J-M. (1984) Phgyusiological basis of conduction in myelinated nerve fibers. In P. Morell (ed) *Myelin*. New York. *Plenum Press*. Pp 117-146.
6. Raine C.S. (2006). Neurocellular Anatomy. In Siegel G.J., Albers R.W., Brady, S.T. y Price D.L (eds) *Basic Neurochemistry: Molecular, Celular and Medical Aspects*. Amsterdam, boston, Heidelberg, London, New York, San Francisco, Oxford, parís, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokio. Elsevier Academic Press. Pp 3-19.

7. Morfini G.A., Stenoien D.L. y Brady S.T. (2006) Axonal Transport. In Siegel G.J., Albers R.W., Brady, S.T. y Price D.L (eds) *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, San Francisco, Oxford, París, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokio. Elsevier Academic Press pp 485-501
8. Mandelkow E. y Mandelkow E.M. (2002) Kinesin motor s and diseases. *Trends Cell Biol.* **12**: 585-591.
9. Morfini G., Pigino G. Y Brady S.T. (2005) Polyglutamine expansion diseases: Failing to deliver. *Trends Mol. Medd.* **11**: 64-70.
10. Hirokawa N. y Takemura R. (2003) Biochemical and molecular characterization of diseases linked to motor proteins. *Trends Biochem.Sci.* **28**: 558-565.
11. Collard J.F., Côte F. Y Julien J.P. (1995) Defective axonal transport in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **375**:61-64.
12. Willianson T.L. and Cleveland D.W. (1999) Slowing of axonal ytransport I a very early event in the toxicity of ALS.liked SOD1 mutants to motor neurons. *Nat. Neurosci.* **2**: 50-56.
13. Morfini G., Pigino G., Beffert U., Busciglio J. and brady S.T. (2002) Fast axonal transport misregulation and Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med.* **2**: 89-99.
14. Bradford (1988) *Fundamentos de Neuroquímica*. Editorial Labor. S.A. Barcelona; 4585 p (Gorovits et al., 1997; Newcomb et al., 1997
15. Sidman R.L. y Rakic P (1973) *Neuronal migration, with special reference to developing human brain: a review*. *Brain Res.* **62**: 1-35
16. López-Bayghen E, Rosas S, Castelán F, Ortega A. (2007). Cerebellar Bergmann glia: an important model to study neuron-glia interactions. *Neuron Glia Biol.* 2007; **3**(2):155-67.
17. Rowitch D.H., Lu R.Q., Richardson W. Y Kessaris N. (2002) An oligarchi rules neural development. *Trends Neurosci.* **25**: 417-422.
18. Bunge R.P. (1968) Glial cells and the central myelin sheath. *Physiol Rev.* **48**: 197-248.
19. Mulholland PJ, Carpenter-Hyland EP, Hearing MC, Becker HC, Woodward JJ, Chandler LJ. (2008) Glutamate transporters regulate extrasynaptic NMDA receptor modulation of Kv2.1 potassium channels. *J. Neurosci.* **28**:8801-9.
20. Harsan LA, Poulet P, Guignard B, Steibel J, Parizel N, de Sousa PL, Boehm N, Grucker D, Ghandour MS (2006). Brain dysmyelination and recovery assessment by noninvasive in vivo diffusion tensor magnetic resonance imaging.. *J Neurosci Res.* **83**:392-402
21. Reese T.S. y Karnovsky M.J. (1967) Fine structural localization of a blood.-brain barrier to exogenous peroxidase. *J.Cell. Biol.* **34**: 207-217.

22. B. Nic hols, J.G.; Martin A.R.; Wallace, B.G. and fuch P.A. (2001) *From neuron to Brain, 4 th edn. Sunderland, M.A.: Sinauer Associates.*
23. C. Hille, B. (1977) Ionic basic of resting and action potentials. In J.M. Brookhart et al. (eds) *Handbook of Physiology*. Washington, D.C.: *American Physiological Society, Vol 1*, pp 99-136.
24. D. Hille B. (2001) *Ion Channels of excitable Membranes. 3rd edn. Sunderland M.A.: Sinauer Associates.*
25. Smith., C.U.M (1974) Iones y potenciales bioeléctricos. In *El Cerebro. Alianza Editorial.* pp 50-63.
26. Hodgkin A.L. (1964) *The Conduction of the Nervous Impulse. Springfield, I.L.: Charles C. Thomas.*
27. Bezanilla F. (2000) The voltage sensor in voltage dependent ion channels. *Physiol Rev.* **80**: 555-592
28. Jan L. Y y Jan Y. N. (1997) Voltage-gated and inwardly rectifying potassium channels. *J. Physiol. Rev.* **505**:267-282.
29. Stühmer, W, Conty F., Suzuki,H et al. (1989) Structural parts involved in activation and inactivation of the sodium channel. *Nature* **339**:597-603.
30. A. Waxman, S.G. and Bangalore,L. (2004) Electrophysiological consequences of myelination. In R.A. Lazzarini (ed). *Myelin biology and disorders. San Diego C.A.: Elsevier Academic Press*, pp 117-141.
31. F. Davenport H.V. (1991) Early history of the concept of chemical transmission of the nerve impulse. *Physiologists.* **34.** 129-190.
32. Hodgkin A.L. y Huxler A.F.A. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J.Physiol. (London)* **117**: 500-544.
33. Devlin T.M. (1999) Membranas Biológicas: Estructura y Transporte a través de membranas. In Devlin T.M. (ed) *Bioquímica Vol 1.Editorial Revert.* Pp 179-216.
34. Nicholls J.G.; Martin A.R., Wallace B.G. y Fuchs P.A. (2001) *From Neuron to Brain 4th edn. Sunderland MA. Sinauer Associates.*
35. Hille B. (1977). Ionic basic of resting and action potentials. I. Brookhart J.M. et al (edt) *Handbook of Physiology.* Washington. DC: *American Physiological Society Vol. 1* pp 99-136.
36. Hille B. (2201) *Inon Channels of Excitable Membranes 3rd edn. Sunderland MA: Sinauer Associates*
37. Bezanilla E. (2000) The voltage sensor in voltage dependent ion channels. *Physiol Rev.* **80**: 555-592.

38. Douglas W.W. y Rubin R.P. (1961) The role of calcium in the secretory response of the adrenal medulla to acetylcholine. *J. Physiol.* **159**: 40-57
39. Wheeler D.B. *et al.* (1994) Roles of the N-type and Q-type channels in supporting hippocampal synaptic transmission. *Science* **264**:107-111
40. Dunlap K. *et al.* (1995) Exocytotic Ca²⁺ channels in the mammalian central nervous system. *Trend Neurosci.* **18**: 89-98.
41. De Camilli P. y Greengard P. (1986) Synapsin-I: a synaptic vesicle-associated neuronal phosphoprotein. *Biochem Pharmacol.* **35**: 4349-4357.
42. Trimble W.S. (1988) Molecular biology of synaptic vesicle-associated proteins. *Trends Neurosci.* **11**: 241-242.
43. Trimble W.S, Cowan D. y Scheller R.H. (1990). VAMP-1: a synaptic vesicle associated integral membrane protein. *Proc. Natl.Acad.Sci. USA* **85**: 4538-4542.
44. Baumert M, Maycox P.R., Navone F., De Camilla P. y Jahn R. (1989) Synaptobrevin: an integral membrane protein of 18.000 daltons present in small synaptic vesicles of rat brain. *EMBO J.* **8**: 379-384.
- 45 Bennett M.K., Calacox N. y Séller R.H. (1992). *Science* **257**: 255-259.
46. Inoue A, Obata K y Akagawa K. (1992) Cloning and sequence analysis of cDNA for a neuronal cell membrane antigen, HPC-1. *J.Biol. Chem.* **267**:10613-10619.
47. Jacobsson G. y Meister (1996) Molecular components of the exocytosis machinery in the rat pituitary gland. *Endocrinology* **137**: 5344-5356.
48. Salinas E.; Quintana J.L y Reig J.A. (1999) Immunohistochemical study of syntaxin-1 and SNAP-25 in the pituitaries of mouse guinea pig and cat. *Acta Physiol.Pharmacol.Therapeut.Latinoamerican* **49**: 61-64.
49. Coorssen jr, Blank P.S-, Albertorio F., Bezrulov L., Kolosova I., Chen X., Backlund P.S. y Zimmerberg G.S. (2003) Regulated secretion: SNARE density, vesicle fusion and calcium dependence. *J.Cell.Sci.* **116**: 2087-2097
50. Sölnner T., Whiteheart S.w., Brunner M., Erdjument-Bromage H., Geromanos S., Tempst P. y Rithman J.E. (1993) *Nature (London)* **362**: 318-323
51. O'Connor V.M., Shamotienko O., Grichin E. y Betz H. (1993) *FEBS Lett.* **326**: 255-260.
52. Horikawa H.P.H., Saisu H., Ishizuka T., Sekine Y., Tsigita A. Odani S. y Abe T. (1993) *FEBS Lett.* **330**: 236-240.
53. Jeffrey S. Van Komen, Xiaoyang Bai, Brenton L. Scott y James A. McNew (2006) An intramolecular t-SNARE complex functions in vivo without the syntaxin NH₂-terminal regulatory domain. *J.Cell.Biol.* **172**: 295-307.
54. Sölnner T. Y Rothman J.E. (1994) Neurotransmission: Hanessing fusion machinery at the synapse. *Trends Neurosc.* **17**:344-348.

55. Bajjalieh S. (2001) SNAREs take the stage: a prime time to trigger neurotransmitter secretion. *Trends Neurosc.* **24**: 678-680.
56. Pierre-Marie Lledo, Ludger Johannes, Philippe Vernier, Robert Zorec, François Darchen, J-D. Vincent, J-P. Henry y William T. Mason (1994) Rab3 proteins: key players in the control of exocytosis. *Trends Neurosc.* **17**: 426-432.
57. Ea Ling Ng y Bor Luen Tang (2008) Rab GTPases and their roles in brain neurons and glia. *Brain Res. Rev.* **58**: 236-246.
58. Kuijpers G.A.J., Rosario L.M. y Ornberg R.L. (1989) Role of intracellular pH in secretion from adrenal medulla chromaffin cells. *J.Biol.Chem.* **264**: 698-705.
59. López, E, Oset-Gasque M.J., Figueroa S., Albarrán J.J. y González M.P. (2001) Calcium channel types involved in intrinsic amino acid neurotransmitter release evoked by depolarising agents in cortical neurons. *Neurochem. Int.* **39**: 283-290.
60. Herrero, M.T., Oset-gasque M.J., López E., Vicente S. y González M.P. (1999) Mechanism by which GABA, through its GABA-A receptor modulates glutamate release from rat cortical neurons in culture. *Neurochem. Int.* **34**: 141-148
61. Cherubini E., Gaiarsa J.L. y Ben-Ari Y. (1991) GABA: an excitatory neurotransmitter in early postnatal life. *Tends. Neurosc.* **14**: 515-519.
62. González, M.P., Oset-Gasque M.J., Castro E., Bujeda J., Arce C. y Parramón M. (1992) Mechanism through which GABA-A receptor modulates catecholamine secretion from bovine chromaffin cells. *Neuroscience* **47**: 487-494.
63. Narkar, V.A., Hussain T. y Lokhandwala M.F. (2002) Activation of D2-like receptors causes recruitment of tyrosine phosphorylated NKA $\alpha 1$ -subunits in kidney. *Am.J. Physiol.Renal Physiol.* **283**: F1290-F1295.
64. Teixeira V.L., Kartz A.I., Pedemonte, C.H. y Bertorello A.M. (2003) Isoform-specific regulation of the Na^+ and Ca^{2+} -ATPase endocytosis and recruitment to the plasma membrane. *Ann N.Y. Acad. Sci.* **986**: 587-594.
65. Carafoli E. (1987) Intracellular Calcium Homeostasis. *Ann Re. Biochem.* **56**: 395-433.
66. Juhaszova J. y Blaustein M.P. (1997) Na^+ pump low and high ouabain affinity α -subunit isoforms are differently distributed in cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 1800-1805.